

Detección de organismos genéticamente modificados en granos importados de maíz (*Zea mays* L.), soya (*Glycine max* L.) y trigo (*Triticum aestivum* L.) empleando inmunoensayo de evaluación directa

Luis Díaz^{1*}, Héctor Ramírez² e Iván Galindo³

¹Facultad de Ingeniería, Universidad Central de Venezuela. Apto. 4579. Caracas, Distrito Capital. Venezuela

²Área de Agronomía. Universidad Nacional Experimental Rómulo Gallegos. San Juan de los Morros, Guárico. Venezuela.

³Dirección de Agricultura y Soberanía Alimentaria, Instituto de Estudios Avanzados. Caracas, Distrito Capital Venezuela.

⁴Oficina de Bioseguridad. Ministerio de Ecosocialismo y Aguas. Caracas, Distrito Capital Venezuela.

RESUMEN

Con el fin de conocer si en el país están ingresando organismos modificados genéticamente o transgénicos, para consumo humano y animal, se obtuvieron en la aduana de Puerto Cabello, estado Carabobo, Venezuela, según la disponibilidad del momento, dos muestras de maíz (*Zea mays* L.), una de soya (*Glycine max* L.) y una de trigo (*Triticum aestivum* L.). Dichas muestras se llevaron al laboratorio y se procesaron según lo indicado en el kit de instrucciones de las tiras de flujo lateral desarrollado por Strategic Diagnostic Inc®, las cuales detectan en combo las proteínas CP4 EPSPS (resistencia a herbicidas) y Cry 1Ab y Cry 3Bb (tolerancia a insectos lepidópteros). De las muestras evaluadas, una de maíz, la de soya y la de trigo, fueron detectadas para las proteínas objeto de estudio. Por lo anterior, se indica que en Venezuela ha ocurrido un movimiento ilícito de organismos genéticamente modificados, dado que las leyes actuales prohíben su uso en el país.

Palabras clave: transgénicos, proteínas transgénicas, tiras de flujo lateral, aduana, Venezuela.

Detection of genetically modified organisms in imported grains of maize (*Zea mays* L.), soybean (*Glycine max* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) by immunoassay direct evaluation

ABSTRACT

In order to know whether genetically modified organisms or transgenic for human and animal consumption are entering in the country, two samples of corn (*Zea mays* L.), one of soybean (*Glycine max* L.), and one of wheat (*Triticum aestivum* L.) were obtained according to availability at the time, at the customs office of Puerto Cabello, Carabobo state, Venezuela. Samples were sent to the laboratory and processed as indicated by the lateral flow strips instruction kit developed by Strategic Diagnostic Inc® which detect proteins CP4 EPSPS (herbicide resistance), and Cry 1Ab and Cry Bb (tolerance to lepidopteran insects). In one sample of corn, soybean and wheat tested, proteins under study were detected. Therefore, an illegal movement of genetically modified organisms has occurred in Venezuela, given that current laws prohibit their use in the country.

Key words: transgenic, transgenic protein, lateral flow strips, customs, Venezuela.

*Autor de correspondencia: Luis Díaz

E-mail:alexanderdiazm7@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El conocimiento en diferentes áreas, no sólo de la agronomía, sino de otros campos aplicados a ella, logró desarrollar procesos y productos específicos capaces de aumentar la eficiencia en la producción de alimentos (Gepts, 2002; Nap *et al.*, 2003). Es así como la biotecnología moderna ha sido un importante motor acelerador de los procesos relacionados con el mejoramiento genético de especies vegetales, permitiendo la inserción de genes entre especies evolutivamente distintas, y creándose así nuevos materiales que mediante las técnicas de mejoramiento genético tradicional no hubiesen sido posibles, los cuales son conocidos como organismos genéticamente modificados (OGM), o transgénicos (Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica, 2000).

La producción y comercialización de OGM en agricultura no es de reciente data. A inicios de la década de los noventa del siglo pasado, se autorizó en EEUU la comercialización del tomate de larga duración, el cual no fue del todo aceptado por el consumidor, por lo que salió rápidamente de los mercados (Redenbaugh *et al.*, 1993; Nap *et al.*, 2003; Mackenzie *et al.*, 2006). Cuatro años más tarde, se inician las liberaciones comerciales de la soya modificada genéticamente tolerante al herbicida Round up Ready®, en Argentina, Canadá, China, Sur África y Australia (James, 2013). De allí en adelante, el número de países y de cultivos modificados genéticamente han ascendido de forma sostenida en el tiempo, siendo sembradas al 2012, 170 millones de hectáreas en 28 países, y fueron aprobados en total cerca de 200 eventos de transformación transgénica, todos ellos asociados con caracteres agronómicos que benefician de manera directa al agricultor (Zhang y Guo, 2011; James, 2013; 2014).

Según el Acuerdo con Motivo del Día Internacional de la Diversidad Biológica (2008) en Venezuela no está permitido el uso de los OGM, hasta que se tenga certeza de que los mismos no generan riesgos potenciales al ambiente, la agricultura, la salud de los consumidores y la economía nacional. En contraste, el Estado ha establecido diversos tratados de cooperación e intercambio agrícolas, siendo uno de los más significativos la entrada del país al Mercado Común del Sur (Mercosur), en donde se realizan importantes transacciones económicas directas, en materia agrícola, con países de la región como Argentina, Brasil y Uruguay, entre otros, en los que la utilización y producción de OGM es una práctica común.

También es importante indicar que la industria biotecnológica está en manos de pocas empresas desarrolladoras de este tipo de organismos (Bruges,

2005), motivo por el cual es importante desarrollar ensayos de laboratorio relacionados con la detección de OGM, para evitar la utilización de la tecnología sin pagar los debidos privilegios por derechos de propiedad intelectual. Por otra parte, los ensayos de detección son igualmente importantes para poder aplicar las reglamentaciones que cada país impone sobre el uso de nuevas tecnologías, las cuales pueden variar desde la total prohibición del uso de OGM, hasta la negativa de utilizar algunos cultivos y/o eventos transgénicos o para declarar el origen transgénico, y su proporción, para el conocimiento de los consumidores que así lo exijan (Longo y Galindo, 2006; Ferreira *et al.*, 2012).

En esta investigación se aplica un método rápido y sencillo para la de detección de OGM, usando el inmunoensayo de evaluación directa, por tiras de flujo lateral, en granos de maíz (*Zea mays* L.), soya (*Glycine max* L.) y trigo (*Triticum aestivum* L.) que atracaron en mayo y junio de 2014, en Bolivariana de Puertos, Aduana Principal de Puerto Cabello, estado Carabobo, para conocer el estado de aplicación de las leyes específicas en materia de bioseguridad y finalmente para recomendar el uso de las tiras de flujo lateral como método de detección de OGM en aduanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Inicialmente se escogieron muestras de maíz, soya y trigo según la disponibilidad de arribo de aquellos cargamentos que serían empleados como materia prima para la elaboración de alimento humano y animal, que ingresaron al país entre el 30 de mayo y el 12 de junio de 2014. Las muestras fueron tomadas por los funcionarios que laboran en el Instituto Nacional de Sanidad Agrícola Integral (Insai) del Puerto. Para tal fin, se utilizó la metodología para la toma de granos a ser analizados para ensayos microbiológicos y entomológicos, desarrollada por el Servicio Nacional de Semillas.

Con ayuda de un calador digital (capacidad de 5 kg), se tomaron en diferentes puntos de la masa de granos de un barco de 25 ton, 4 submuestras, y se mezclaron para formar una muestra compuesta de 20 kg (por cada cultivo). De esta muestra, se seleccionó una submuestra de 2 kg por cada cultivo, la cual fue entregada por los funcionarios del Insai a los representantes del Ministerio de Ecosocialismo y Aguas, siendo estas trasladadas a la sede de la Oficina Nacional de Diversidad Biológica, en Maracay, estado Aragua.

Cada muestra fue dividida en dos partes; una submuestra de 1,5 kg se molió en seco, empleando un molinillo eléctrico comercial, marca Moulinex®, cuya capacidad de molienda era de 300 g. Dicha

labor se iniciaba con la limpieza del molinillo con un paño humedecido con una solución de etanol al 70% (3 veces), y una vez con hipoclorito de sodio al 3,5% de ingrediente activo. Este procedimiento de limpieza se realizó entre muestras y al finalizar la molienda (Di Bernardo *et al.*, 2007). De esta fracción se recolectó con una espátula estéril desechable de plástico, el polvillo más fino que quedaba adherido a las paredes de la tolva del molinillo. Dicha harina era vertida en vasos plásticos descartables. Se procuró obtener por cada cultivo dos porciones de 5 g.

Al maíz se le agregaron 10 mL de agua destilada estéril, la cual se encontraba a 4°C, mientras que para trigo y soya se agregaron 30 mL de agua destilada estéril a 4°C, debido a que estos materiales absorben mayor cantidad de agua que el maíz. Posteriormente las mezclas se agitaron vigorosamente con ayuda de goteros descartables estériles, se dejaron precipitar y con ayuda de los goteros, se tomaron 1,5 mL del líquido libre (sobrenadante), los cuales se trasvasaron a microtubos cónicos de 2 mL de capacidad.

De la otra fracción de muestras (500 g), se tomaron al azar 50 granos y se colocaron a germinar durante una semana, bajo extremas condiciones de seguridad biológica, en bandejas de plástico con papel de filtro común, regadas diariamente con agua de chorro. Todas las plantas germinadas se separaron del papel de filtro y se maceraron vigorosamente en morteros fríos a 4°C, hasta obtener la mayor cantidad de zumo de las plántulas, siendo esta la fracción de análisis para esta parte del ensayo.

Para la ejecución del ensayo de laboratorio relacionado con la detección de OGM, se utilizó las tiras de flujo lateral (Trait®) desarrolladas por la empresa Strategic Diagnostics Inc. (EEUU), con el fin de evaluar las proteínas transgénicas CP4 EPSPS, que le confiere a los cultivos tolerancia al herbicida Round up Ready® y Cry1Ab y Cry3Bb, relacionada con la resistencia a insectos lepidópteros.

La prueba se ejecutó aplicando el procedimiento que se detalla a continuación. En cada mezcla se introdujo una tira de flujo lateral, se esperó unos 5 min a que fluyera el líquido por la tira hasta observar que la banda control se coloreara, luego se extrajeron de la mezcla, dejando secar en papel secante y finalmente se compararon con los controles detectables (o controles positivos), para cada evento de transformación, además de compararse también con el patrón de referencia que posee el kit. La aparición de una línea (control) indica que la prueba se desarrolló de manera adecuada, las tiras estaban funcionando apropiadamente, y que el cultivar puede considerarse no detectable para las

proteínas transgénicas objeto de estudio; mientras que la aparición de bandas adicionales a las del control, indica un resultado detectado (Stave, 2002). Todos estos ensayos se realizaron en dos repeticiones, con el fin de evaluar la repetibilidad de los ensayos de laboratorio y la veracidad de los resultados (Lipp *et al.*, 2000).

En todos los casos se hicieron las respectivas comparaciones con los controles de reacción. El negativo (cultivar no detectable de las proteínas transgénicas) fue donado por el Laboratorio de Recursos Fitogenéticos del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Venezuela, el cual fue un material de maíz nacional, obtenido por mejoramiento tradicional. Esto permitió comprobar el correcto funcionamiento de las tiras, debido a que las mismas teñían adecuadamente la zona de control interno de las cintas. Por otra parte, se dispuso de harinas de los cultivos objeto de estudio que contenían por separado las proteínas transgénicas que detecta el kit. Las harinas que contenían las proteínas transgénicas detectables fueron donadas por el Laboratorio de Detección de OGM del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina, y fueron importadas al país con los respectivos permisos de las autoridades competentes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se observa que todas las bandas se teñieron a nivel del control de detección, o sea que el ensayo se realizó de forma adecuada y la prueba se aplicó correctamente.

En el maíz blanco no se detectó ninguna de las proteínas transgénicas objeto de estudio, tanto en granos molidos en seco, como en el zumo de las plántulas. Este resultado posiblemente se deba en parte, a que el maíz blanco transgénico es poco comercializado internacionalmente. De hecho, tales cultivares de maíz son usados en pocos países, siendo uno de ellos Colombia (Invima, 2005) y Venezuela (Díaz y Galindo, 2014), en donde el mismo es empleado como materia prima para la elaboración de la harina de maíz precocida (Cartay, 2000). Esto se refuerza según lo señalado por las autoridades colombianas quienes indican que ya se han liberado cultivares de maíz blanco transgénico, en donde se puede detectar la proteína Cry1Ab (Invima, 2005).

En los granos de maíz amarillo se detectó la proteína asociada con la tolerancia al herbicida glifosato y las proteínas Cry 1Ab y Cry 3Bb relacionadas con la resistencia de insectos lepidópteros, o sea que en esta muestra evidentemente ocurrió la mezcla de al menos dos lotes de granos con distintos eventos transgénicos, o el cargamento provino de un lote con uno o dos

		Granos molidos				Zumo de plántulas			
		CI	RUR	Cry3Bb	Cry1Ab	CI	RUR	Cry3Bb	Cry1Ab
MB	R1	D	ND	ND	ND	D	ND	ND	ND
	R2	D	ND	ND	ND	D	ND	ND	ND
MA	R1	D	D	D	D	D	D	D	D
	R2	D	D	D	D	D	D	D	D
S	R1	D	D	ND	ND	D	D	ND	ND
	R2	D	D	ND	ND	D	D	ND	ND
T	R1	D	D	ND	ND	D	D	ND	D
	R2	D	D	ND	ND	D	D	ND	D

Figura 1. Resultados de la aplicación de las tiras de flujo lateral en muestras de granos de maíz blanco (MB) y amarillo (MA), soya (S), trigo (T), en harina de granos molidos en secos y en zumo de plántulas, muestreados en Puerto Cabello, estado Carabobo. D: detectado, ND: no detectado, R: repetición.

eventos apilados, o simplemente una mezcla de todos estos (Halpin, 2005; De Schrijver *et al.*, 2007). En los granos es común que esto ocurra debido a que durante el proceso de arribe a los silos se mezclan diferentes materiales que cumplen con la condición de que el endosperma sea del mismo color, sobre todo por el volumen de material que arriba al país de este maíz amarillo. Los posibles eventos, ya sean solos o mezclados, que podrían estar en la muestra son Bt 176, Bt 11 y MON810 que contienen la proteína Cry1Ab, MON 863 que contiene la proteína transgénica Cry 3Bb, MON88017 que posee las proteínas Cry 3Bb y CP4 EPSPS y los eventos NK603 y GA21 que contienen la proteína EPSPS (identificadas como RUR en la tira) (Zhang y Guo, 2011).

Los granos de soya resultaron detectados para la proteína que le confiere tolerancia al herbicida glifosato, ya sea en granos molidos o en el zumo de las plántulas. El evento de resistencia al herbicida Round up Ready®, se conoce como GTS 40-3-2, y fue el primer cultivo modificado genéticamente comercializado en grandes volúmenes en el ámbito internacional (Lin *et al.*, 2001). El mismo se liberó y adoptó en Argentina en 1996, y es considerado el primer producto biotecnológico que modificó el mercado de la producción de OGM en el mundo (James, 2011). O sea que el evento asociado con resistencia al herbicida glifosato, siempre ha sido el evento dominante en la comercialización de OGM. En 2011, la tolerancia a herbicidas en soya, maíz, canola, algodón, remolacha azucarera y alfalfa ocupó 93,9 millones de hectáreas o el 59% de los 160 millones de hectáreas agrobiotecnológicas del mundo (James, 2012).

Las autoridades regulatorias de doce países han aprobado la liberación al ambiente de al menos unos 30 cultivares de plantas que expresan la proteína CP4 EPSPS en soya, remolacha azucarera, canola, algodón,

alfalfa, maíz y trigo, los cuales se hallan básicamente en los siguientes eventos de transformación transgénica: GTS-40-3-2, GTSB77, GT73, ZSR500/502, J101xJ163, MON88913, MON88017 y MON71800, solo por mencionar algunos (James, 2014).

Para trigo se logró la detección de la proteína asociada con la tolerancia al glifosato (RUR), en granos molidos, mientras que en los granos germinados se logró la detección adicional de la resistencia a insectos, poniendo en evidencia que la estabilidad de la proteína transgénica es distinta según el procesamiento que se le aplique a la muestra, el cual hace que se modifique la estructura de la proteína y no haya sido reconocida en el sitio específico de unión antígeno/ anticuerpo de la tira. Resultados similares fueron obtenidos por Díaz y Galindo (2014), al evaluar semillas comerciales de maíz en Venezuela.

En el caso de este cultivo, hace siete años, se adoptó en Norteamérica la decisión de retrasar la introducción del trigo tolerante a herbicidas, pero tal decisión se revisó y posteriormente se aprobó (James, 2013). Muchos países y empresas están acelerando el desarrollo de una serie de eventos biotecnológicos para el trigo, como la tolerancia a la sequía, la resistencia a enfermedades y la calidad del grano, los cuales ya se encuentran actualmente en el mercado (James, 2014). Sin embargo, se planteó la opción de tener cuidado con el uso de dichos transgénicos, debido a que autoridades de algunos países han realizado evaluaciones de riesgo ambiental y han considerado riesgos relacionados con las siguientes tres categorías de posibles daños: 1) la proteína CP4 EPSPS puede tener un impacto ambiental adverso sobre organismos no blanco, 2) la transformación de la planta huésped y la subsiguiente expresión de CP4 EPSPS pueden alterar las características de la planta, dando como

resultado impactos ambientales adversos, por ejemplo, un aumento de la posibilidad de convertirse en maleza y 3) introgresión del gen CP4 EPSPS en una especie de planta compatible sexualmente que puede alterar a dicha especie y resultar en impactos ambientales adversos (por ejemplo, establecimiento de nuevas poblaciones de malezas) (La Rosa *et al.*, 2006; ILSI, 2013).

Estos resultados sugieren que las autoridades aduanales no están realizando las pruebas de detección de OGM a las materias primas, y/o productos procesados, que son importados al país, tal y como ya lo había señalado Miranda (2005). Esto quiere decir que se puede presumir que los OGM se encuentran en cualquier eslabón de las cadenas agroalimentarias del país.

Lo ideal sería realizar las debidas pruebas de detección de OGM y cotejar los resultados nacionales con lo que señala la documentación que acompaña a un cargamento y si el mismo no cumple con los requisitos establecidos por el país, entonces rechazar la mercadería objeto de comercialización, algo que es poco probable de realizar en la práctica debido a los volúmenes de comercialización y a los costos que acarrea dicha práctica. La otra opción sería la de sincerar la posición nacional y reconocer que Venezuela es un país que vive de la renta petrolera, y que la mayoría de los productos agrícolas, particularmente el maíz, la soya y el trigo, provienen de las importaciones, lo que trae como desafío la adecuación de los procedimientos de evaluación en bioseguridad a las necesidades indicadas por el tipo de sistema de intercambio de productos agrícolas hacia el país.

CONCLUSIONES

En el maíz blanco no se detectó ninguna de las proteínas transgénicas objeto de estudio, tanto en granos molidos en seco, como en el zumo de las plántulas.

En los granos de maíz amarillo se detectaron las proteínas asociadas con la tolerancia al herbicida glifosato y la resistencia a insectos lepidópteros. En granos es común que esto ocurra debido a las mezclas de diferentes cultivares o de diferentes eventos de transformación transgénica, debido al volumen de material que se comercializó.

Los granos de soya resultaron detectados para la proteína que le confiere tolerancia al herbicida glifosato, ya sea en granos molidos en seco o en el zumo de las plántulas.

Para maíz amarillo y soya se pueden emplear las tiras de flujo lateral desarrolladas por la empresa SDI® como un método de detección temprano en granos, debido a que el poco procesamiento de estas muestras permitió la detección de diferentes proteínas transgénicas.

Para trigo se logró la detección de la tolerancia al glifosato en granos molidos en seco, mientras que en los granos germinados se logró la detección adicional de la resistencia a insectos, poniendo en evidencia que la estabilidad de la proteína transgénica es distinta según el procesamiento que se le aplique a la muestra.

Los resultados sugieren concluir que los ensayos basados en evaluación directa mediante el uso de las tiras de flujo lateral son viables de recomendar para emplearse en aduanas, para la detección de OGM en materias primas con muy poco procesamiento, debido a la rapidez y facilidad de realizar estas pruebas y a la veracidad de los resultados en cuanto a la repetibilidad.

Finalmente se señala que las autoridades aduanales no están realizando las pruebas de detección de OGM a las materias primas, y/o productos procesados, que son importados al país, por lo que no se está haciendo cumplir lo indicado en las leyes nacionales en cuanto al uso de OGM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuerdo con Motivo del Día Internacional de la Diversidad Biológica. 2008. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela. N° 38.942. 30 mayo 2008. Caracas, Venezuela.
- Bruges, M. 2005. Bio-guía para periodistas: Biotecnología Agrícola. Publicaciones de Agrobio – Colombia. Bogotá, Colombia. 74p.
- Cartay, R. 2000. El consumo de maíz en Venezuela. *In* Fontana, H. y C. González (Eds.) El Maíz en Venezuela. Fundación para la Investigación Agrícola DANAC. Fundación Polar. Caracas, Venezuela. pp 238 – 254.
- De Schrijver, A.; D. Van Den Bulcke; M. Cadot; P. Reheul; M. Sneyers. 2007. Risk assessment of GM stacked event obtained from crosses between GM event. *Trend Food Sci. Technol.* 18(1): 101 – 109.
- Di Bernardo, G.; S. Del Gaudio; U. Galderisi; A. Cascino; M. Cipollaro. 2007. Evaluation of different DNA extraction procedures from food samples. *Biotec. Prog.* 23: 297 – 301.
- Díaz, L.; I. Galindo. 2014. Detección e identificación de eventos asociados a organismos vivos modificados en semillas de maíz (*Zea mays* L.) en Venezuela empleando métodos de inmunoensayo y análisis por PCR. *Rev. Fac. Agron. UCV* 40(1): 37 – 49.

- Ferreira, J.; G. Almeida; A. Borém; W. Silva; T. Alemu. 2012. Biosafety and Detection of Genetically Modified Organisms. In Ozden, Y. (Ed.) *Transgenic Plant, Advances and Limitations*. Intech. Disponible en <http://www.intechopen.com/books/transgenic-plants-advances-and-limitations/biosafety-and-detection-of-genetically-modified-organisms>.
- Gepts, P. 2002. A comparison between crop domestication, classical plant breeding, and genetic engineering. *Crop Sci.* 42(1): 1780 – 1790.
- Halpin, C. 2005. Gene stacking in transgenic plant. The challenge for 21st century plant biotechnology. *Plant Biotech.* 3(1): 141 – 155.
- ILSI. 2013. Un análisis de la seguridad ambiental de las proteínas Cry34Ab1 y Cry35Ab1. International Life Science Institute. Washington, EUA. 16p.
- Invima (Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos). 2006. Acta 5 del 17 octubre de 2006. Numeral 2 (Maíz DAS-01507-1) de la Sala Especializada de Alimentos y Bebidas Alcohólicas del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. Bogotá, Colombia.
- James, C. 2011. Situación mundial de la comercialización de cultivos biotecnológicos/transgénicos en 2010. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. Manila, Las Filipinas. 22p.
- James, C. 2012. Situación mundial de la comercialización de cultivos biotecnológicos/transgénicos en 2011. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. Manila, Las Filipinas. 19p.
- James, C. 2013. Situación mundial de la comercialización de cultivos biotecnológicos/transgénicos en 2012. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. Manila, Las Filipinas. 21p.
- James, C. 2014. Situación mundial de la comercialización de cultivos biotecnológicos/transgénicos en 2013. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. Manila, Las Filipinas. 16p.
- La Rosa, J.; M. Hernández; J. Vilaragut; L. Pastor; O. Rodríguez; T. Campos; L. García; J. Verdura. 2006. Organismos vivos modificados: guía para evaluación y gestión de riesgos. Centro Nacional de Seguridad Biológica. La Habana, Cuba. 147 p.
- Lin, H.; J. Chiang; D. Chih. 2001. Detection of genetically modified soybean by PCR method and immunoassay kits. *J. Food Drug Anal.* 9(3): 160 – 166.
- Lipp, M.; E. Anklam; J. Stave. 2000. Validation of an immunoassay for detection and quantification of a genetically modified soybean in food and food fractions using reference materials: interlaboratory study. *J. AOAC Int.* 83(4): 919 – 927.
- Longo, F.; I. Galindo. 2006. Métodos de detección de organismos genéticamente modificados (OGM) en la cadena agroalimentaria: conceptos para su aplicación. Programa de Biotecnología para América Latina y el Caribe y de la Red Regional de Bioseguridad. Caracas, Venezuela. 63 p.
- Mackenzie S.; I. Lamb; J. Schmidt; L. Deege; M. Morrissey; M. Harper; R. Layton; L. Prochaska; C. Sanders; M. Locke; J. Mattsson; A. Fuentes; B. Delaney. 2006. Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DAS-Ø15Ø7-1 in Sprague–Dawley rats. *Food Chem. Tox.* 45: 551 – 562.
- Miranda, F. 2005. Evaluación del sistema de flujo nacional e importado de granos, semillas u otros materiales de reproducción existente en la República Bolivariana de Venezuela. Consultoría realizada para el proyecto Marco Nacional de Seguridad de la Biotecnología de la República Bolivariana de Venezuela. Oficina Nacional de Diversidad Biológica. Ministerio del Poder Popular para el Ambiente. Caracas, Venezuela. 62 p.
- Nap, J.; P. Metz; M. Escaler; A. Conner. 2003. The release of genetically modified crops into the environment. *Plant J.* 33(1): 1 – 18.
- Redenbaugh, K.; T. Berner; D. Emlay; B. Frankos; W. Hiatt; C. Houck; M. Kramer; L. Malyj; B. Martineau; N. Rachman; L. Rudenko; R. Sanders; R. Sheehy; R. Wixtrom. 1993. Regulatory issues for commercialization of tomatoes with an antisense polygalacturonase gene. *J. In Vitro Cell. Dev. Biol.* 45(2): 17 – 26.
- Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica. 2000. Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica. Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica. Montreal, Canadá. 30 p.
- Stave, J. 2002. Protein immunoassay methods for detection of biotech crops: Applications, limitations, and practical considerations. *J. AOAC Int.* 85(3): 780 – 786.
- Zhang, D.; J. Guo. 2011. The development and standardization of testing method for genetically modified organisms and their derived product. *J. Integ. Plant Biol.* 53(7): 539 – 551.